

Immunologische Studien
zur Frage der Isosensibilisierung
mit Fermentproteinen
(Untersucht
am Beispiel der Lactatdehydrogenase)

von
Peter Mitzel
aus Ansbach

1967



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41533916_0023

Aus der Abteilung für klinische Immunologie des
Universitätskrankenhauses Erlangen-Nürnberg
Vorstand: Prof. Dr. med. F. Scheiffarth

IMMUNOLOGISCHE STUDIEN
ZUR FRAGE DER
ISOSENSIBILISIERUNG MIT FERMENTPROTEINEN
(Untersucht am Beispiel der Lactatdehydrogenase)

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE
der
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
der
FRIEDRICH-ALEXANDER-UNIVERSITÄT
zu
ERLANGEN-NÜRNBERG

Vorgelegt
von
Peter Mitzel
aus
Ansbach.

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Professor Dr. med. Karl-Günther Ober

Referent: Professor Dr. med. F. Scheiffarth

Tag der mündlichen Prüfung: 14. August 1967

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

EINLEITUNG1

VERSUCHSANORDNUNG UND METHODIK.....3

ERGEBNISSE.....9

DISKUSSION.....12

ZUSAMMENFASSUNG.....15

LITERATURVERZEICHNIS.....17

Die Möglichkeit der Isosensibilisierung eines Organismus durch speziegleiche, d. h. homologe proteine Substanzen ist auf Grund klinischer wie auch tierexperimenteller Erfahrungen hinlänglich bekannt. Man denke nur an die auf Isosensibilisierung beruhenden Transfusionszwischenfälle, die ebenfalls durch Isosensibilisierung bedingte Gewebsabstoßung nach Transplantation homologer Organe, aber auch an die Parenchymschädigung nach Injektionsserien mit homologen Organextrakten im Tierversuch. (15, 3, 16). Der Nachweis einer Isosensibilisierung erfolgt durch die Hämagglutinationsreaktion nach BOYDEN (1), wobei das Serum des sensibilisierten Organismus auf zirkulierende, spezifische Isoantikörper geprüft wird. Als Antigene kommen hier bekanntlich die vermuteten Zellsuspensionen wie Thrombocyten, Erythrocyten und Leukocyten oder Organhomogenate bzw. einzelne Zytoplasma-, Kern- oder Mitochondrienfraktionen zur Anwendung.

Unberücksichtigt blieben bislang bei diesen Untersuchungen isolierte Fermentfraktionen, welchen auf Grund theo-

retischer Überlegungen insofern Beachtung geschenkt werden sollte, als die Entwicklung von Isoantikörpern gegen Fermente zu einer Hemmung entsprechender organgebundener oder auch im Serum zirkulierender Fermente führen kann.

In vorliegender Arbeit sollte deshalb am Beispiel der LDH geprüft werden, ob homologe LDH eine Isoantikörperbildung in einem anderen Individuum derselben Spezies zu induzieren vermag.

VERSUCHSANORDNUNG UND METHODIK

VERSUCHSANORDNUNG

Zwei Kaninchen mit einem Durchschnittsgewicht von 2000 g wurden mit dem Substrat einer aus Kaninchen-Muskel isolierten LDH⁺ sensibilisiert (s.u.), die Seren der Tiere in regelmäßigen Abständen auf agglutinierende und präzipitierende Antikörper gegen das Antigen geprüft. Als Agglutinationsmethode wurde die Hämagglutinationsreaktion nach BOYDEN gewählt. Die Präzipitationsreaktionen wurden im Agarmilieu vorgenommen: zweidimensionale Immunodiffusion. Hierbei wurden jeweils die LDH als Antigen gegen Kaninchen-Seren und zur Prüfung auf speziesunspezifische Eigenschaften gleichzeitig gegen ein Anti-Human-Serum⁺⁺ angesetzt; außerdem ein menschliches Normalserum gegen Anti - LDH - Serum der Kaninchen sowie gegen spezifisches Anti-Humanserum. Schließlich wurde zur Prüfung des antigenen Materials, d. h. der verwendeten LDH - Fraktion, sowie der Humansen die LDH - Nachweisreaktion mit Tetrazoliumblau nach VAN DER HELM (8) angewandt.

⁺ LDH der Firma C. F. POEHRINGER & SOEHNE GMBH
Mannheim - Waldhof Art. Nr. 15145

⁺⁺ Anti-Humanserum der Firmen:
BEHRINGERWERKE AG MARBURG + LAHN
HYLAND LABORATORIES LOS ANGELES, CALIF., USA

METHODIK

1. Herstellung der spezifischen LDH-Antisera:

Zwei Kaninchen (A und B) wurde nach Abnahme des Leerwertes ⁺ das Fermentantigen in folgender Weise appliziert:

Als Anfangsdosis erhielten beide Tiere je eine Emulsion aus 0,5 ml LDH und 1,5 ml FREUNDSchem Adjuvans ⁺⁺ i.m. injiziert, ferner im Abstand von jeweils 5 Tagen viermal 0,3 ml LDH s.c.; die LDH wurde hierbei beim Tier A mit 1,2 ml FREUNDSchem Adjuvans emulgiert, während Kaninchen B reine LDH injiziert erhielt. Während der Sensibilisierungsphase wurden bei beiden Kaninchen am 5., 12., 26. und 40. Tag nach Versuchsbeginn Kontrolluntersuchungen zum Nachweis spezifischer Isoantikörper vorgenommen. Sieben Wochen nach der letzten Injektion wurde eine erneute Sensibilisierungsserie mit zweimal 0,3 ml LDH (mit 1,2 ml FREUNDSchem Adjuvans) im Abstand von zwei Wochen i.m. und s.c. unternommen. Kontrolluntersuchungen erfolgten am 2., 6. und 16. Tag.

⁺ Die Seren der unbehandelten Tiere wurden mit der für den Versuch vorgesehenen LDH auf unspezifische Agglutinations- (BOYDEN-Test) und Präzipitationsreaktionen (OUCHTERLONY) geprüft.

⁺⁺ Adjuvant complete FREUND Control 481716
DIFCO LABORATORIES DETROIT MICHIGAN USA

In einem dritten Sensibilisierungsversuch erhielten nach weiteren fünf Wochen beide Kaninchen 0,2 ml LDH i.m. (mit 0,8 ml FREUNDSchem Adjuvans emulgiert). Dem Tier B wurden weiterhin im Abstand von jeweils zwei Tagen viermal je 0,2 ml reine LDH s.c. appliziert. Nach Ablauf von 12 Tagen wurde beim Kaninchen B außerdem eine Reininjektion mit 1,0 ml LDH auf 4,0 ml FREUNDSches Adjuvans vorgenommen. Kontrolluntersuchungen fanden am 5., 8., 22. und 26. Tag nach Beginn der dritten Sensibilisierung statt.

2. Hämagglutinationsreaktion nach BOYDEN (1)

P r i n z i p : Die passive Hämagglutination beruht auf der Möglichkeit, antigen wirksame Substanzen an die Oberfläche von tanninbehandelten Erythrocyten zu adsorbieren. Die so sensibilisierten Erythrocyten gehen bei Zugabe des spezifischen Immunserrums eine Agglutination ein.

A u s f ü h r u n g :

1. Vorbehandlung der Erythrocyten

- a.) Gewinnung: Hammelblut wird durch ständiges Schütteln defibriniert.
- b.) Waschen: das defibrinierte Blut wird anschließend zentrifugiert und das überstehende Serum verworfen. Die verbleibenden Erythrocyten werden dreimal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und anschließend auf eine 2,5 %ige Suspension eingestellt.
- c.) Tannieren: gleiche Teile einer Tanninsäurelösung 1 : 40 000 werden zu dieser Suspension gemischt und 20 Minuten bei 37°C inkubiert. Die Erythrocytensuspension wird 10 Minuten bei 1 500 U/min. abzentrifugiert, die überstehende Flüssigkeit

abgegossen und nach nochmaligem Waschen in physiologischer Kochsalzlösung erneut auf eine 2,5 %ige Erythrozytensuspension eingestellt.

- d.) Inkubieren mit dem Antigen: zu der 2,5 %igen Erythrocytensuspension wird die in einem Vorversuch ermittelte optimale Antigenmenge (hier LDH) gegeben. Das Gemisch wird 20 Min. bei 37°C inkubiert. Danach wird bei 1 500 U/min. abzentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit verworfen. Nach zweimaligem Waschen wird erneut eine 2,5 %ige Erythrozytensuspension eingestellt.

2. Aufbereitung des Immunserums

- a.) Den Versuchstieren werden 10 ml Blut entnommen und abzentrifugiert. Das überstehende Serum wird bei 56°C 30 Min. in einem Wasserbad inaktiviert.
- b.) Herstellung einer geometrischen Verdünnungsreihe mit physiologischer Kochsalzlösung.

3. Versetzen der geometrischen Reihe mit der tannierten und antigenbeladenen Erythrocytensuspension. Zur Titerbestimmung werden nun jeweils 0,25 ml der sensibilisierten Erythrocyten zu einer geometrischen Verdünnungsreihe des zu untersuchenden Serums hinzugegeben.

4. Hierauf läßt man die Agglutination zwei Stunden bei Zimmertemperatur stehen.

5. Beurteilung:

Die letzte noch eine Agglutination zeigende Verdünnung des Immunserums wird als Antikörper-Titer angegeben.

3. Zweidimensionale Immunodiffusion nach OUCHTERLONY (12)

Im Prinzip handelt es sich um eine Abwandlung der eindimensionalen Doppeldiffusion mit dem Unterschied, daß die Reaktionskörper frei dem Trägermedium zugeführt werden. Es wird also das Immuneserum ebenso wenig wie das Antigen mit dem Agar gemischt, beide diffundieren jedoch in das Agargel. Es entstehen an den Stellen optimaler Konzentration Präzipitate, die sich hier in Gestalt von Linien abzeichnen. Jede dieser Präzipitationslinien entspricht einem einzelnen Antigen-Antikörper-System. Nähere Ausführungen sind dem einschlägigen Schrifttum zu entnehmen.

4. Agarelektrophorese nach GRABAR und WILLIAMS (6,4)

Hierbei wurde unter Verwendung eines Michaelis-Puffers (p_H 8,6; Ionenstärke 0,05) ein 1,5 %iges Agargel hergestellt, fettfreie Objektträger mit 3,0 ml flüssigem Elektrophoreseagar beschickt und durch Filterpapierstreifen (Whatman-Papier Nr. 1) an den Enden mit dem Pufferbehälter einer Elektrophoresekammer verbunden. In der Mitte der Agarplättchen wurden Aussparungen für die Aufnahme der Proteinanalysen gestanzt. Die Trennzeit betrug bei ca. 90 Volt Gleichspannung 60 bis 90 Minuten. Die Fermentpräparate wurden unverzüglich in die spezifische Inkubationslösung (s.o.) gelegt, die zum Vergleich mit angesetzten Serumproben in 2 %ige Essigsäurelösung und nachfolgend in üblicher Weise mit Amidoschwarz 10 B gefärbt.

5. Ferment-Nachweisreaktion nach VAN DER HELM (8)

a. Herstellung der Inkubationslösung:

79,0 mg Natriumlactat werden zusammen mit 2,8 mg Nitroblau-Tetrazolium in 60,0 ml Aqua dest. gelöst. Zu dieser Lösung wird 10,0 ml EDTA-TRA-Puffer (p_H 7,5) sowie 1,7 mg Phenazin-Methosulfat auf 1,7 ml Aqua dest. und 68 mg DPN gegeben.

b. Färbung der Agarplatten:

Agarplatten bei 37°C in Inkubationslösung belassen, bis charakteristisch blaugefärbte Fraktionen sichtbar werden (nach ca. 1 Stunde). Nachher zwei Stunden lang in eine Fixierlösung, bestehend aus 5 ml konzentrierter Essigsäure in 70 %igem Äthylalkohol gelöst, einlegen und anschließend unter fließendem Wasser spülen.

c. Beurteilung:

Die Fraktionen können mit dem Extinktionsschreiber quantitativ ausgewertet sowie photographisch dokumentiert werden.

ERGEBNISSE

I. Charakterisierung des Fermentantigens:

Bei dem zur Verfügung gestandenen Herzmuskelpräparat handelte es sich um LDH aus Kaninchenmuskel. Bei elektrophoretischer Trennung im Agargel und nachfolgender Anwendung der von VAN DER HELM entwickelten färbetischen Nachweismethode LDH-aktiver Komponenten konnte im Vergleich zu einem normalen Kaninchenserum dieses LDH-Substrat als einheitliche Komponente mit der Wanderungsgeschwindigkeit eines Alpha-Globulins charakterisiert werden. Unter Berücksichtigung dessen, daß für die elektrophoretische Analyse eine Verdünnung der LDH von 1 : 40 mit physiologischer Kochsalzlösung gewählt wurde, war die Farbtintensität dieses Substrats immer noch um ein Vielfaches stärker als die Färbung der LDH-Komponenten des normalen Kaninchenserums. (Abb. 1)

II. Immunologische Ergebnisse:

a.) Ergebnisse der Hämagglutinationsreaktion:

Auf Grund der vorliegenden Versuchsanordnung konnte bei der 2. Kontrolle, d. h. 12 Tage nach Sensibilisierungsbeginn, im Serum des Kaninchens A ein Agglutinationstiter von

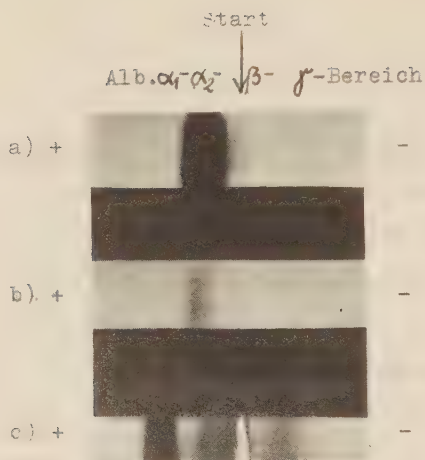


Abb. 1: Gegenüberstellung des LDH-Präparats aus Kaninchenmuskel (1a), Serum-LDH (1b) und den mit Amidoschwarz gefärbten Proteinfractionen (1c) desselben Kaninchensерums.

1 : 1024, im Serum des Kaninchens B ein Titer von 1 : 64 festgestellt werden (Tab. 1). Bei 3. Kontrolle war der Agglutinationstiter bei dem einen Tier um zwei Stufen zurückgefallen, während er beim anderen auf gleichem Niveau blieb. Nach einer Reinjektion ca. 7 Wochen nach einem behandlungsfreien Intervall wurden erneut Titer von 1 : 1024 bzw. 512 nachgewiesen (BOOSTER - Effekt). Mit den gleichzeitig getesteten Kaninchen- und Menschenserum konnten mit dem Anti-LDH-Serum keine pathologisch erhöhten Hemmagglutinationstiter (gegen Kaninchen höchster Titer 1 : 16, gegen Mensch höchster Titer 1 : 8) nachgewiesen werden.

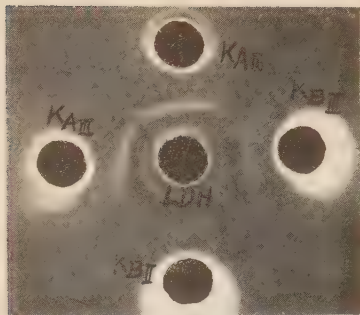
Tabelle 1

Kaninchen A		Kaninchen B
Ausgangs- wert	1 : 4	1 : 8
I.Kontr.	1 : <u>8</u>	1 : 4
II.Kontr.	1 : 1024	1 : 64
III.Kontr.	1 : 256	1 : 64
IV.Kontr.	1 : 1024	1 : 512

Tab. 1 zeigt die Agglutinationstiter von zwei Kaninchen, welche mit homologer Muskel-LDH sensibilisiert wurden. Bei beiden Tieren zeigt sich ein deutlicher Titeranstieg.

b.) Ergebnisse der zweidimensionalen Immunodiffusion:

Mit der zweidimensionalen Immunodiffusion ließ sich zum Zeitpunkt der 2. Kontrolle erstmals und von da an regelmäßig zwischen der LDH und dem spezifischen Antiserum ein einzelnes Präzipitat nachweisen (Abb. 2 a, b, c). Bei Behandlung mit Tetrazoliumblau war dieses Präzipitat schwach färbbar. Immunoэлектроphoretisch erwies sich dieses Präzipitat als Alpha-Globulin. Gegen das Serum eines unbehandelten Kaninchens ebenso wie gegen das mitgetestete menschliche Serum konnten im Ansatz gegen Anti-LDH-Serum vom Kaninchen keine Präzipitate nachgewiesen werden. Wahrscheinlich waren die Konzentrationen der LDH-Fermenteiweiße um ein vielfaches zu niedrig als daß sie für den Ausschluß von Kreuzreaktionen geeignet gewesen wären.



K_A II = Serum des Kaninchens A
bei II. Kontrolle

K_B II = Serum des Kaninchens B
bei II. Kontrolle

K_A III = Serum des Kaninchens A
bei III. Kontrolle

K_B III = Serum des Kaninchens B
bei III. Kontrolle

Abb. 2a: Zweidimensionale Immunodiffusion im Agargel: Gegenübergestellt sind das zur Sensibilisierung verwendete LDH-Präparat und die verschiedenen Antiseren (Kaninchen A und B).

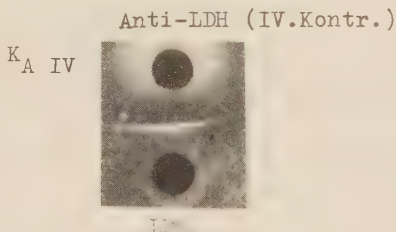


Abb. 2b: Darstellung eines einzelnen Präzipitations-systems bei zweidimensionaler Immunodiffusion von LDH und einem im Isosensibilisierungsversuch gewonnenen Antiserums gegen LDH. Hier BOOSTER-Effekt.

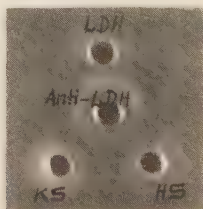


Abb. 2c: Zweidimensionale Immunodiffusion. Gegenüberstellung von LDH-Präparat, Kaninchenserum (Serum eines unbehandelten Kaninchens) sowie Humanserum (Serum eines Patienten mit erhöhter LDH).

DISKUSSION

Sensibilisierungsversuche mit heterologen LDH-Komplexen (11a) sowie LDH-Isoenzym (11b, c, d, 13, 7, 2, 10, ¹⁴17) haben, wie aus den Angaben der einschlägigen Literatur der letzten Jahre hervorgeht, vor allem zur Aufklärung der genetisch definierbaren Faktoren des hypothetischen A-B-Systems beigetragen.

So konnten NISSELBAUM und Mitarbeiter auf Grund ihrer mehrjährigen immunologischen Studien nachweisen, daß spezifisches Antiserum gegen LDH I in hohem Maße eine Hemmung der Aktivität dieses Fermentes, nicht aber eine Hemmung der LDH V - Aktivität bewirkt, und umgekehrt, daß spezifisches Anti-LDH V eine optimale Hemmung dieses Fermentes, nicht aber der LDH I hervorruft. Entsprechend der Genkombination der LDH II - IV kommt es mit Anti-LDH I zu einem abfallenden Hemmeffekt bzw. zu einer abfallenden Präzipitationsreaktion (CAHN und Mitarbeiter sowie MARKERT und APELLA) von I nach IV, mit Anti-LDH V von V nach I.

I	II	III	IV	V
BBBB	BBBA	BBAA	BAAA	AAAA

x Anti-LDH I (Herz)

xx Anti-LDH V (Muskel)

Während also die hochspezifische Antikörperbildung gegen heterologe Isoenzyme der LDH verschiedener Spezies, insbesondere auch des Menschen, zu einer festen Erfahrungstatsache geworden ist, die sowohl für die Grundlagenforschung der Enzymeiweiße als auch für die praktische angewandte Immunologie - man denke an die Möglichkeit des immunologischen Nachweises qualitativ und auch quantitativ unterschiedlicher LDH-Komponenten - hohe Bedeutung erlangt, sind unseres Wissens Erfahrungen über eine Isosensibilisierung durch entsprechende Enzyme in der einschlägigen Literatur bislang nicht niedergelegt.

Die vorliegenden Ergebnisse nach Sensibilisierung von Kaninchen mit homologer LDH I (x) haben gezeigt, daß auch Enzymeiweiß zu einer typischen Isosensibilisierung führen kann, wobei zirkulierende agglutinierende sowie präzipitierende Antikörper nachweisbar wurden.

Obwohl laborchemische Untersuchungen zur Frage einer Aktivitätshemmung nicht gleichzeitig vorgenommen wurden, so erweisen die positiven Agglutinations- und Präzipitationsphänomene die spezifische Bindungsfähig-

x Die Voruntersuchungen mit dem zur Verfügung gestandenen Antigen, das als "LDH aus Kaninchenmuskel" bezeichnet wurde, haben ergeben, daß es sich wohl um eine LDH aus Herzmuskelextrakt gehandelt haben muß.

keit des Isoantikörpers an das speziesspezifische LDH - Antigen, woraus der Schluß einer zumindest teilweisen Fermenthemmung berechtigt erscheint, auch wenn die Antigen-Antikörper-Reaktion allein über das Ausmaß der Hemmung eines Enzyms durch seinen spezifischen Antikörper keine Gesetzmäßigkeiten erkennen läßt. Als wichtigste Voraussetzung für eine immunologische Fermenthemmung müßte erwiesen sein, daß die gebildeten Antikörper speziell gegen das aktive Zentrum von Enzymen gerichtet sind. Für die Existenz solcher Antikörper sprechen Befunde, wie dies RAJEWSKY (14) mitgeteilt hat, daß Enzyme durch ihr Substrat und Coenzym vor der Aktivitätsmessung durch Antikörper geschützt werden können. Für die LDH konnte immerhin unter bestimmten Bedingungen eine partielle Hemmung der Enzymaktivität nachgewiesen werden (14). Mit Bezug auf die Herkunft des zur Sensibilisierung verwendeten LDH-Präparats, d.h. die Organspezifität, wird in einer weiteren Studie berichtet werden. Auf Grund der hinlänglich bekannten Tatsache, daß ein speziesspezifischer Anti-LDH-Antikörper nicht nur mit seinem spezifischen Isoenzym, sondern auch mit speziessfremden, d.h. also heterologen Isoenzymen kreuzreagiert, ist als wahrscheinlich anzunehmen, daß die LDH-Isoenzymspezifität in Abhängigkeit von ihrer genetisch determinierten Struktur immunologisch dominant ist über Spezies- und Organspezifität. Daraus

läßt sich folgern, daß die Isoenzyme der LDH in einem Organismus sowohl mit Bezug auf ihre Fermenteigenschaften, als auch mit Bezug auf ihre immunologischen Eigenschaften ubiquitär in biologischen Flüssigkeiten und Organen gleichartig strukturiert sind und daß sie lediglich durch quantitative Relationsänderungen, d.h. also durch ihre " Isoenzymmuster " Varianten aufweisen. Daß aber dennoch speziesspezifische, immunologisch wirksame Eigenschaften in der vorliegenden Versuchsanordnung nachweisbar wurden, sollte insofern Beachtung finden, als dadurch die Möglichkeit gegeben ist, daß z.B. im Rahmen von frischen Vollblut- und Plasmaübertragungen mit einer Isoantikörperbildung gegen Fermenteiweißkörper, hier LDH - Faktoren gerechnet werden muß.

ZUSAMMENFASSUNG

Mit Hilfe der zweidimensionalen Immunodiffusion nach OUCHTERLONY, der Agarelektrophorese nach GRABAR und WILLIAMS sowie der Hämagglutinationsreaktion nach BOYDEN wurde aus Kaninchen-Herzmuskel isolierte LDH untersucht.

Gegen das Substrat wurden Antiseren im Kaninchenversuch entwickelt und die beiden Systeme, Antigen und Immunserum, mit den angegebenen Geltechniken sowie der Hämagglutinationsmethode geprüft.

Als Ergebnis der Untersuchungen ist festzustellen:

1. Das LDH-Substrat stellt im Vergleich zu einem normalen Kaninchen Serum eine einheitliche Komponente mit der Wanderungsgeschwindigkeit eines Alpha-Globulins dar.
2. Zwischen dem LDH-Substrat und dem spezifischen Antiserum war ein einzelnes Präzipitat nachweisbar, das sich als empfindlich gegenüber der spezifischen LDH-Färbung immunoelktrophoretisch als Alpha-Globulin erweist.
3. Mit Hilfe der Hämagglutinationsreaktion konnten im Serum der mit LDH behandelten Kaninchen spezifische Isoagglutinationsreaktionen mit Titern

bis zu 1 : 1024 nachgewiesen werden.

Die einzelnen Ergebnisse wurden unter Berücksichtigung der einschlägigen Literatur diskutiert.

LITERATURVERZEICHNIS

1. BOYDEN, S. V.:

The adsorption of proteins on erythrocytes treated with tannic acid and subsequent hemagglutination by antiprotein sera.

I. exp. Med. 83, 107 (1952)

2. CAHN, R. D., KAPLAN, N. O., LEVINE, L. und ZWILLING, E.:

Nature and development of lactic dehydrogenases

Science 136, 962 (1962)

3. GÖTZ, H., SCHEIFFARTH, F., WARNATZ, H. und CHRIST-

MEIER, G.:

Weitere tierexperimentelle Studien über die Bildung humoraler Antikörper gegen homo- und autologes Lebergewebe.

Z. Gastroenterologie (1966)

4. GRABAR, P.:

Etudes sur les protéines à l'aide de méthodes immunochimiques.

Bull. Soc. Chim. biol. 36, 65 (1954)

5. GRABAR, P. et BURTIN, P.:

a.) Analyse immuno-électrophorétique. Masson, Paris 1960

b.) Immunoelktrophoretische Analyse.

Elsevier, Amsterdam 1964

6. GRABAR, P. and WILLIAMS, C. A.:

Methode permettant l' étude conjuguée des propriétés électrophorétiques et immuno-chimiques d' un mélange des protéines; application au sérum sanguin.

Biochim. biophys. Acta 10 : 193 (1953)

7. GREGORY, K. F. und WROBLEWSKI, F.:

Preparation and properties of purified anti-lactic dehydrogenase.

J. Immunol. 81, 359 (1958)

8. HELM VAN DER, H. J.:

A simplified method of demonstrating lactic dehydrogenase isoenzymes in serum.

Clin. Chim. Acta 7, 124 (1962)

9. HOLBOROW, E. J., ASHERSON, G. L. and WIGLEY, R. D.:

Autoantibody produktion in rabbits. VI. The produktion of autoantibodies against rabbit gastric, ileal, and colonic mucosa.

Immunology 6, 551, (1963)

10. MARKERT, C. L. und APELLA, E.:

Immunochemical properties of lactate dehydrogenase isozymes.

Ann. N. Y. Acad. Sci. 103, 915 (1963)

11. NISSELBAUM, J. S. und BODANSKY, O.:

a.) Reaktionen of lactic dehydrogenase from various rabbit organs with antirabbit muscle lactic dehydrogenase.

J. Biol. Chem. 234, 3276 (1959)

b.) Differences between the lactic dehydrogenases isolated from human heart and liver.

Federation proc. 19, 336 (1960)

c.) Purifikation and properties of human heart lactic dehydrogenase.

J. Biol. Chem. 236, 323 (1961)

d.) Reaktionen of human tissue lactic dehydrogenases with antisera to human heart and liver lactic dehydrogenases.

J. Biol. Chem. 236, 401 (1961)

12. OUCHTERLONY, Ö.:

Antigen and antibody reaktionen in gels.

Acta path. microbiol. scand. 26, 507 (1949)

13. PLAGEMANN, P. G. W., GREGORY, K. F. und WROBLEWSKI, F.

a.) The elektrophoretically distinct forms of mammalian lactic dehydrogenase. I. Distribution of lactic dehydrogenases in rabbit and human tissues.

J. Biol. Chem. 235, 2282 - 7 (1960)

b.) The elektrophoretically distinct forms of mammalian lactic dehydrogenase. II. Properties and interrelationships of rabbit and human lactic dehydrogenase isozymes. J.Biol.Chem. 235a, 2288 - 95 (1960)

c.) The elektrophoretically separable lactic dehydrogenases in mammals. III. Influence of temperature on the lactic dehydrogenases in rabbits. Biochem. Z. 334; 37 - 48 (1961).

14. RAJEWSKY, K.:

Enzymprotein als Antigen. Immunologische Studien an Lactatdehydrogenasen.

Immunchemie, Springer. 15. Coll. Ges. f. physiol. Chem. 173 (1965). April 1964 Mosbach / Baden

15. SCHEIFFARTH, F., WARNATZ, H., GÖTZ, H. und KETTNER, G.:

Tierexperimentelle Studien über die Bildung humoraler Organantikörper gegen homo- und autologes Lebergewebe.

Z. Gastroenterologie 5, 279 (1964)

16. WEIR, D. M. :

Liver autoantibodies in the rat.

Immunology 6, 581 (1963)

17. WILKINSON, J., H., D.Sc.:

Isozymes.

E. & F. N. spon. LTD, London 51 - 53 (1965)

Herrn Prof. Dr. med. F. Scheiffarth möchte ich herzlich danken für die Überlassung des Themas, die in Freundlichkeit erteilten Ratschläge sowie für die Übernahme des Referates.

Ein besonderes Anliegen ist es mir, an dieser Stelle Frau Dr. med. H. Götz herzlich zu danken für die lebenswürdige Hilfe während dieser Arbeit.

Lebenslauf

Am 18. Juni 1942 wurde ich, Peter Mitzel, als zweites von drei Kindern des damaligen Regierungsrates Dipl. Ing. Karl Mitzel und seiner Ehefrau Luise Mitzel, geb. Wegmann, in Ansbach geboren.

Dort besuchte ich die Volksschule und anschließend das Humanistische Gymnasium in Ansbach, wo ich im Juni 1961 die Reifeprüfung ablegte.

Mit dem Studium der Medizin begann ich im Wintersemester 1961/62 an der Universität in Erlangen, wo ich mich im Oktober 1962 der naturwissenschaftlichen und im April 1964 der ärztlichen Vorprüfung unterzog. Im Wintersemester 1964/65 studierte ich an der Universität in Wien und im Sommersemester 1965 an der Universität in Innsbruck. Seit dem Wintersemester 1965/66 habe ich wieder an der Universität Erlangen belegt und möchte hier nach dem Wintersemester 1966/67 das Medizinische Staatsexamen ablegen.



**BUCH- UND FOTODRUCK
LUDWIG MÖLLER
ERLANGEN · FAHRSTR. 5**